Aus dem Zahnärztlichen Institut der Universität Göttingen.
Direktor: Professor Dr. Rebel.

„Untersuchungen über Karies in vitro"

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät der Universität zu Göttingen

vorgelegt
am 30 XI. 37.
von

Willy Klie
appr. Zahnarzt aus Göttingen.

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i.W.
1938

Dekan: Prof. Dr. K r a n t z.
Berichterstatter: Prof. Dr. R e b e l.

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Dezember 1937.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Göttingen.

Schon 1867 berichtet Magitôt über Versuche, Karies auf experimentellem Wege hervorzurufen. Verschiedene Säuren und Salze, aber auch gärende Eiweißstoffe und Kohlehydrate ließ er auf extrahierte Zähne einwirken. Die Veränderungen, die er so erzeugte, bezeichnete er nach dem makroskopischen Aussehen, ohne sie also mikroskopisch zu untersuchen, als vollkommen gleich der natürlich entstandenen Karies. Einige Jahre später beschäftigte sich W. D. Miller in ganz anderer, nämlich vertiefter Weise, mit diesem Problem. Sehr eingehend beschreibt er in seiner Arbeit „Mikroorganismus der Mundhöhle" seine eigenen Untersuchungen, die mit zerschnittenen Zähnen und einer Mischung von Brot und Speichel vorgenommen wurden. Drei Monate hielt er diese Mischung bei einer Temperatur von 37° und erneuerte sie während dieser Zeit mehrere Male. Diese an den Zahnstückchen erzeugte Experimentalkaries soll makro- wie mikroskopisch vollkommen der natürlichen Karies geglichen haben. Im histologischen Bilde konnte Miller erkennen, daß die Infiltration der Dentinkanälchen mit Bakterien bis zu der gewöhnlichen Tiefe erfolgt war. „Auch waren durch Verschmelzung der Intertubularsubstanz entstandene Kavernen, Ausbuchtungen, Fissuren etc. sichtbar." 1919 veröffentlichte Walkhoff seine Untersuchungen. Im Gegensatz zu Miller verwandte er ganze Zähne, überzog sie mit Wachs und entfernte dann an bestimmten Punkten diesen Überzug wieder, um hier das Brotspeichelgemisch einwirken zu lassen. Sechs Monate blieben die so präparierten Zähne, unter häufiger Erneuerung des Gemisches, im Brutofen. Über das Ergebnis dieser Versuche schreibt Walkhoff selbst: „Diese an den ganzen Zähnen an jeder beliebigen Stelle künstlich erzeugte Zahnkaries kann von der natürlichen weder makroskopisch noch mikroskopisch unterschieden werden." Bolbrinker kommt zu demselben Resultat als er, angeregt durch Walkhoffs Ver-

suche, ein Jahr später eigene Experimente unternimmt. Zunächst arbeitete er mit einer ähnlichen Technik wie Walkhoff, benutzte dann aber eine reine Bakterienaufschwemmung an Stelle des Brotspeichelgemisches und erzeugte hiermit dieselben Veränderungen jedoch in bedeutend kürzerer Zeit. Seitz experimentierte mit fast gleicher Versuchsanordnung wie Bolbrinker und kam ebenfalls zu der Feststellung: „Nach 124 Tagen zeigten sämtliche Zähne vollausgebildete Karies. — Im histologischen Bilde kein Unterschied gegenüber der natürlichen Karies." Einige Jahre später berichtet Hallberg über die Ergebnisse ähnlicher Untersuchungen. Zunächst stellte er einmal künstliche Karies auf eine ähnliche Weise wie Walkhoff her, brachte dann erneut Zähne und auch Schnitte von künstlicher und natürlicher Karies in ein Brotspeichelgemisch, um einmal das Gemisch und andererseits die kariösen Massen selbst durch Ausstrichpräparate bakteriologisch zu untersuchen. Seine hierbei gewonnenen Ergebnisse lassen sich nicht mit den von Miller, Walkhoff, Bolbrinker und Seitz vertretenen Ansichten vereinbaren. Hallberg kommt schließlich zu dem Schluß: „Durch die vorhergehenden Untersuchungen ist festgestellt, daß sich am Zahn im Reagenzglas nur ein rein chemischer Prozeß bei völliger Auflösung der Zahnsubstanz (Entkalkung) abspielt, und daß keine Bakterieneinwanderung stattfindet wie bei der natürlichen Karies." In neuester Zeit veröffentlichten Fasoli, Manicardi, Beretta und M. Solinas Arbeiten über dieses Thema. Fasoli und Manicardi, deren Untersuchungen schon 1924 aufgenommen wurden, können nach zahlreichen Experimenten feststellen: „Die sog. Experimentalkaries in vitro hat nichts den pathologischen Prozessen des Organismus vergleichbares." Was man im Laboratoriumsversuch erzeugte, sei eine einfache Entkalkung, denn Bakterien konnten im Versuchszahn erst nach drei Monaten nachgewiesen werden. Zu einer proteolytischen Gewebszerstörung kam es nie, auch wenn man die Beobachtungen um bedeutende Zeit verlängerte. M. Solinas bestätigte und erhärtete diese Befunde durch eigene Experimente. Bei seinen Versuchen brachte er in einigen Fällen in die Reagenzgläser zu dem Brotspeichel-

gemisch außerdem ein Stückchen erkrankter Mundschleimhaut oder einen gangränösen Zahn. Aber auch hiermit ließ sich kein proteolytischer Effekt erzeugen. Beretta hingegen bestätigt erneut die Angaben Millers. Bei seinen jüngsten Experimenten, über die Beretta 1932 berichtete, hat er auf kariesanfällige und widerstandsfähige Zähne ein Brotspeichelgemisch, zu dem er verschiedentlich ein Stückchen faulendes Gewebe hinzufügte, wirken lassen. Nach verschieden langer Zeit rief er hiermit Veränderungen an den Zähnen hervor, die nach seiner Ansicht von einer natürlichen Karies weder makro- noch mikroskopisch zu unterscheiden waren. Außer einer Erweichung will er also auch eine proteolytische Zerstörung des Gewebes, das dem Gemisch ausgesetzt war, beobachtet haben.

Eigene Untersuchungen.

Bei unseren eigenen Untersuchungen wurden zur Herstellung der künstlichen Karies frisch extrahierte Zähne verwendet, auf die wir unmittelbar nach der Extraktion ein Brotspeichelgemisch einwirken ließen. Die Zähne stammten von Personen im Alter von 11 bis 72 Jahren und zwar einmal aus karieswiderstandsfähigen, dann aber auch aus kariesanfälligen Gebissen. Ein Teil der Versuchszähne war mehr oder weniger kariös, ein anderer Teil ließ, auch bei genauester Betrachtung mit der Lupe, keine kariösen Veränderungen der Oberfläche erkennen. Der Schmelz wie das Zement waren hier von normaler fester Struktur. — Bei der Einteilung unserer Versuchszähne wollen wir folgende Gruppen unterscheiden:

I. Zähne aus karieswiderstandsfähigem Gebiß:
Zahn ohne Karies.

II. Zähne aus karieswiderstandsfähigem Gebiß:
Kariöser Zahn.
a) Karies ersten Grades.
b) Karies zweiten Grades.
c) Amalgamfüllung, Silikatfüllung } mit und ohne sekundäre Karies.

III. Zähne aus kariesanfälligem Gebiß:
Zahn ohne Karies.

IV. Zähne aus kariesanfälligem Gebiß:
Kariöser Zahn:
a) Karies ersten Grades.
b) Karies zweiten Grades.
c) Amalgamfüllung
Silikatfüllung } mit und ohne sekundäre Karies.

Nachdem alle Versuchszähne von ihrer mesio-approximalen und disto-aproximalen Seite photographiert waren, wurden sie mit einer Bienenwachsschicht überzogen. Bestimmte Stellen des Zahnes blieben von Wachs unbedeckt, bzw. wurden wieder von Wachs befreit. So war es möglich, solche Stellen frei vom Wachsüberzug zu lassen, die auch in vivo eine besondere Prädilektion zur Karies zeigen. Weiterhin konnte die Aussparung in jeder Form und an jedem Teil des Zahnes vorgenommen und so den Einwirkungen des Brotspeichelgemisches ausgesetzt werden.

Zur Herstellung des Gemisches wurde Vollkornbrot und Speichel verwandt, dieser immer von derselben Person. Das für alle Versuche benutzte Vollkornbrot setzte sich aus folgenden Bestandteilen zusammen:

750 g Roggenschrot
100 g gekochtes altes Brot
30 g Zuckersirup
Salz und Wasser.

Ein Gramm kleingequetschtes Vollkornbrot und 6 ccm Speichel wurden in einer Petrischale intensiv gemischt, mit dem präparierten Versuchszahn in ein weites Reagenzglas getan, und bei 37° in den Thermostaten gestellt. Da wir bei unseren Laboratoriumsversuchen soweit wie irgend möglich ähnliche Bedingungen wie im Munde haben wollten, wurde das Brotspeichelgemisch täglich erneuert. Um die Stärke der Säurebildung zu kennen, war es notwendig, Untersuchungen über die freie allein wirksame Säure, nämlich über die Ionenkonzentration, anzustellen.

Für die Feststellung der Wasserstoffionenkonzentration wurde die elektrometrische Methode benutzt, die sehr genaue Werte liefert. Da größere Reihenuntersuchungen vorzunehmen waren, sahen wir von einer Verwendung der Wasserstoffelektrode ab, weil die Einstellung des Potentials längere Zeit in Anspruch nimmt. Wir benutzten die Chinhydronelektrode, die diese Nachteile nicht zeigt, dabei aber mit einer Genauigkeit von 0,02 p_h arbeitet. Alkalische Lösungen, deren Wasserstoffionenkonzentration größer als 7,75 ist, können mit der Chinhydronelektrode bekanntlich nicht mehr gemessen werden, denn das Chinhydron wird bei dieser Alkalinität bald zu organischen Säuren oxydiert. Unsere Untersuchungen wurden durch diesen beschränkten Meßbereich nicht beeinträchtigt, da mit alkalischen Flüssigkeiten, für die diese Beschränkung zutreffend gewesen wäre, nicht experimentiert wurde.

Das Brotspeichelgemisch, dessen Wasserstoffionenkonzentration wir hier bestimmten, wurde, solange es möglich war, nämlich bis zu 24 Stunden aus den Reagenzgläsern entnommen, in denen auch die Versuchszähne waren. Für die Feststellung der folgenden Werte stammt das Gemisch aus Gläsern, die sich unter denselben Bedingungen im Thermostaten befanden, aber keine Versuchszähne enthielten. Die Wasserstoffionenkonzentration von sechs verschiedenen Brotspeichelgemischen wurde von uns von 0 Stunden bis zu 12 Tagen in einzelnen Intervallen verfolgt.

p_h-Werte des Brotspeichelgemisches.

Gemisch Nr.	Speichel 0 Std.	Gemisch 0 Std.	1 Std. 37°	2 Std.	3 Std.	6 Std.	12 Std.
1.	6,08	5,70	5,62	5,47	5,20	4,85	4,44
2.	6,25	5,90	5,81	5,59	5,27	4,88	4,46
3.	6,79	5,94	5,82	5,65	5,37	4,98	4,54
4.	6,88	5,98	5,83	5,55	5,25	4,87	4,45
5.	6,03	5,71	5,63	5,38	5,09	4,73	4,35
6.	6,13	5,89	5,83	5,57	5,24	4,84	4,42

Gemisch Nr.	24 Std.	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage	7 Tage
1.	4,00	3,57	3,48	3,42	3,46	3,47	3,49
2.	3,99	3,59	3,50	3,42	3,49	3,50	3,50
3.	4,02	3,57	3,46	3,39	3,38	3,41	3,43
4.	3,97	3,55	3,44	3,36	3,41	3,45	3,48
5.	3,95	3,55	3,45	3,41	3,46	3,48	3,48
6.	3,98	3,56	3,46	3,38	3,36	3,37	3,39

Gemisch Nr.	8 Tage	9 Tage	10 Tage	11 Tage	12 Tage
1.	3,50	3,52	3,56		
2.	3,51	3,53	3,56		
3.	3,46	3,49	3,53		
4.	3,49	3,50	3,54	3,64	3,71
5.	3,49	3,50	3,53	3,60	3,68
6.	3,41	3,45	3,49	3,57	3,66

Die recht starken Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration des Speichels, auch bei ein und demselben Individuum, sind bekannt; darauf ist aber hier nicht eingegangen worden. — Schon der p_h-Wert des eben fertiggestellten Brotspeichelgemisches ist, wie erwartet, kleiner als der des Speichels, denn das Vollkornbrot enthält ja primär Säure. Bei allen sechs Gemischen nimmt die Azidität dann weiter zu bis zum 4. oder 5. Tag, erreicht hier ihren höchsten Stand und nähert sich dann langsam wieder dem Neutralpunkt. Hieraus ergibt sich, daß ein gärungsfähiges Kohlehydrat bei unseren Versuchen Vollkornbrot in Verbindung mit Speichel sekundär Säure produziert, die dann allerdings vom 4. oder 5. Tage ab, vermutlich durch Auftreten von Sproßpilzen, langsam abnimmt.

Die Mischung aus Brot und Speichel stellt natürlich ein Mittel dar, das sich erheblich von den Bedingungen, die wir im Munde selbst antreffen, unterscheidet. Da wir aber kein brauchbareres Experimentiermittel besitzen, wollen wir dieses soweit wie möglich den natürlichen Bedingungen angleichen. Wir ließen

aus diesem Grunde das Brotspeichelgemisch höchstens 24 Stunden auf die Versuchszähne einwirken. Alsdann wurden die Reagenzgläser gereinigt und das Gemisch frisch hergestellt, denn nach 24 Stunden finden wir eine so starke Säurebildung, wie sie auch in einem ungepflegten Munde nicht entstehen kann.

Unsere Untersuchungen wurden an fast 30 Zähnen durchgeführt. Um zu zeigen, wie die Anordnung der Versuche im einzelnen war, lassen wir nun aus den 4 Gruppen, in die wir alle Zähne einteilten, je eine Tabelle folgen. Gleichzeitig kann man hieran auch die Entwicklung der Laboratoriumskaries zusammenhängender erkennen.

Nr. 1. *Gruppe I.*

G. Thea, 11 Jahre.

⌊6 Pulpa intakt. Ohne Karies. Mesiale Fissur etwas vertieft. Keine Abrasio. Schmelz weißlich-gelb, Zement hellgelb gefärbt. — Zahn mit Bienenwachs überzogen.

Mesial im Kontaktpunkt linsengroß keine Wachsbedeckung (Schmelz).

Bukkal an der Schmelz-Zementgrenze kein Wachsüberzug (Schmelz-Zement).

Distal im Kontaktpunkt linsengroße Aussparung im Wachs (Schmelz).

Kaufläche keine Wachsbedekkung (Schmelz).

1. Tag: Zahn in Brotspeichelgemisch (1 g Vollkornbrot 6 ccm Speichel) gelegt. Gemisch täglich erneuert.

8. Tag: Mesiale Aussparung kreidig-weiß verfärbt (Entkalkung). Bukkal und distal beginnende Weißfärbung des Schmelzes. Zement nimmt dunkelgelbe Farbe an. Kaufläche von der Peripherie her beginnende kreidige Weißfärbung. Hier noch am schwächsten.

9. Tag: Kaufläche mesiale Fissur, Schmelz mit Karbosteinchen entfernt. Dentin liegt frei.

14. Tag: Kaufläche mesiale Fissur, freiliegendes Dentin. Sieht dunkelgelb aus. Schmelz opak-weiße Farbe an allen freiliegenden Stellen.

70. Tag: Alle von Wachs unbedeckten Stellen zeigen das Bild der Karies im ersten Anfangsstadium. Verfärbung und schon geringe Erweichung.

126. Tag: Wachsschicht entfernt. Bukkal, Zement mittelbraune Farbe und so erweicht, daß Sonde 1 mm

in die Substanz eindringen kann. Schmelz fällt bei Berührung ab, darunterliegendes Dentin ebenfalls erweicht und dunkelgelb verfärbt.

Nr. 12. *Gruppe IIb.*

B. Liesbeth, 27 Jahre.

⌊8 Pulpa: Pulpitis. Mesiooccl.: Karies II.—III. Grades. Kaufläche geringe Abrasio. Schmelz hellgelbe, Zement gelbe Farbe. — Zahn mit Bienenwachs überzogen.

Disto-appr. erbsengroße Aussparung im Wachs (Schmelz-Zement). Mesio-occl. Karies von Wachs bedeckt.

1. Tag: Zahn in Brotspeichelgemisch (1 g Vollkornbrot 6 ccm Speichel) gelegt. Gemisch täglich erneuert.

4. Tag: Die ganze Aussparung zeigt beginnende Weißfärbung von der Peripherie her. Oberfläche noch spiegelnd.

6. Tag: Die von Wachs unbedeckt gelassene Fläche ist völlig kreidig-weiß verfärbt. Zement sieht dunkelgelb aus.

60. Tag: Zement hat dunkelgelbe bis hellbraune Farbe angenommen. Schmelz opakweiß und erweicht.

119. Tag: Wachschicht entfernt. Disto-appr. Schmelz vollkommen erweicht, kreidigweiße Farbe, von einzelnen Sprüngen durchzogen. Bei Sondierung fällt er leicht ab. Darunterliegendes Dentin ebenfalls erweicht. Zement hellbraune Farbe. Sonde dringt hier 1—1½ mm tief ein.

Nr. 21. *Gruppe III.*

Fl. Hugo, 72 Jahre.

⌊7 Pulpa intakt. Ohne Karies. Distale Fissur etwas vertieft. Kaufläche starke Abrasio. Schmelz hellgelbe, Zement gelbe Färbung. — Zahn mit Bienenwachs überzogen.

Mesial: Vom Zahnhals bis 1 mm unterhalb der Kaufläche kein Wachsüberzug (Schmelz-Zement).

Bukkal: An der Schmelz-Zementgrenze erbsengroße Aussparung im Wachs (Schmelz-Zement).

Kaufläche: Linsengroß von Wachs frei (Schmelz).

1. Tag: Zahn in Brotspeichelgemisch (1 g Vollkornbrot 6 ccm Speichel) gelegt. Gemisch täglich erneuert.

5. Tag: Kaufläche und mesial beginnende Weißfärbung des Schmelzes.

7. Tag: Bukkal und mesial Zement dunkelgelbe Farbe. Schmelz: Kaufläche mesial und bukkal kreidigweißes Aussehen.

60. Tag: Die Entkalkung ist weit fortgeschritten. Alle dem

Gemisch ausgesetzten Stellen sind erweicht. Zement hellbraune, Schmelz opakweiße Farbe.

119. Tag: Wachsumhüllung des Zahnes entfernt. Bei der mesialen Karies vermag die Sonde in Höhe des Kontaktpunktes 2 mm tief einzudringen. Der kreidigweiße, von Rissen durchzogene Schmelz ist sehr brüchig, springt schon bei Berührung leicht ab. Der Bruchrand ist rauh und zerbrechlich. Dentin und Zement ebenfalls erweicht, von hellbrauner Farbe.

Nr. 36. *Gruppe IVc.*

R. Else, 59 Jahre.

3 | Pulpa intakt. Distal mittlere Silberamalgamfüllung. Kein exakter Randschluß (Füllung steht über). Mesio-occl. hirsekorngroße Silberamalgamfüllung. Umgebung dunkel verfärbt, aber keine Erweichung. Schmelz sonst hellgelbe, Zement gelbe Farbe. Geringe Abrasio. — Zahn mit Bienenwachs überzogen.

Distal: Vom Zahnhals bis zur Schneidekante kein Wachsüberzug (Schmelz-Zement).

Mesial: Vom Zahnhals bis zur Schneidekante keine Wachsbedeckung (Schmelz-Zement).

Bukkal: An der Schmelz-Zementgrenze linsengroße Aussparung im Wachs (Schmelz-Zement).

1. Tag: Zahn in Brotspeichelgemisch (1 g Vollkornbrot 6 ccm Speichel) gelegt. Gemisch täglich erneuert.

3. Tag: Mesiale und distale Aussparung kreidige Weißfärbung des Schmelzes. Zement hat dunkelgelberen Farbton angenommen.

5. Tag: Schmelz jetzt auch bukkal kreidig-weißes Aussehen. Die dunkle Färbung des Zementes hat sich verstärkt.

60. Tag: Zement sieht hellbraun aus und ist erweicht; ebenso der opak-weiße Schmelz, der schon von einigen haarfeinen Linien durchzogen ist (Sprünge).

112. Tag: Wachsüberzug des Zahnes entfernt. Der Schmelz ist disto- und mesio-appr. um die Amalgamfüllung herum teilweise abgefallen. Die Sonde vermag mit geringem Druck 2 mm tief einzudringen. Dabei geben die Amalgamfüllungen nach und fallen heraus. Dentin unter den Füllungen erweicht und hellbraun verfärbt. Zement hellbrauner Farbton. Sonde dringt auch hier ungefähr 2 mm tief ein.

Nach 126 Tagen, nachdem auch die letzte Gruppe der Versuchszähne aus dem Thermostaten entfernt war, wurden diese wieder von ihrer mesio-appr. und disto-appr. Seite photographiert.

Makroskopische Betrachtung.

Schon die gewöhnliche Betrachtung dieser Zähne zeigt ohne weiteres, daß jeder Zahn von der Säure des Brotspeichelgemisches angegriffen wurde. Wie erwartet, traten die Erscheinungen am schnellten an den Zähnen auf, die aus einem kariesanfälligen Gebiß stammten; und von diesen zeigten wieder diejenigen, die schon von vornherein irgendeinen strukturellen Schaden besaßen, den geringsten Widerstand gegenüber den Einwirkungen des Brotspeichelgemisches. Die ersten makroskopischen Entkalkungserscheinungen wurden hier schon nach drei Tagen beobachtet. Aber auch Zähne aus Gebissen, die keine oder doch nur wenig Karies aufwiesen und selbst ohne die geringste Läsion waren, wurden nach spätestens zehn Tagen doch von der Säure des Gemisches angegriffen. — W. D. Miller schreibt hierzu in „Mikroorganismen der Mundhöhle": „Wenn dagegen die Zähne von fester Struktur und von gesundem Schmelz bedeckt sind, so wird die Säure nur eine langsame oder auch gar keine Einwirkung ausüben". Wie die Versuche mit der Gruppe I, d. h. mit Zähnen aus einem karieswiderstandsfähigen Gebiß, die nach der Untersuchung mit der Lupe als vollkommen intakt bezeichnet werden mußten, beweisen, trifft dieses nicht zu, denn unempfänglich gegen Säurewirkung war nicht einer dieser Zähne. Wohl muß der Cuticula wie der einwandfreien Struktur des Schmelzes eine bedeutende Widerstandskraft zuerkannt werden, Entkalkungserscheinungen traten nach 8—10 Tagen aber doch auf. Ganz allgemein konnten wir feststellen, daß sich die Laboratoriumskaries an den Wurzeln schneller bildet, als an den Kronen. An Zähnen aus allen vier Gruppen ließen wir neben von Wachs entblößten Stellen an der Krone, auch solche auf verschiedenen Wurzelgegenden, besonders am Halse, gleich unterhalb der Grenze des Zahnschmelzes. Immer wieder kamen wir dabei zu dem gleichen Ergebnis, nämlich, daß die Erweichung an der Wurzel in kürzerer Zeit eine

größere Tiefe und flächenhafte Ausdehnung erreichte. — Es zeigte sich, daß die Experimentalkaries nicht auf die Punkte beschränkt blieb, die wir durch Fortnahme des Wachses für ihr Entstehen bestimmt hatten, sondern unter der Wachsbedeckung verbreitete sie sich unmittelbar in den obersten Schichten des Gewebes um den freiliegenden Punkt herum. Besonders auffallend war diese Erscheinung am Zement.

Wenn wir nun die künstlich erzeugte Karies rein makroskopisch mit der natürlichen vergleichen, so müssen wir feststellen, daß schon in der Färbung Unterschiede bestehen. Der Schmelz ließ bei der Experimentalkaries in den ersten Anfangsstadien einen weißen Schimmer erkennen, der dann zu einem kreidigen Fleck wurde. Die spiegelnde Oberfläche ging verloren, das Aussehen wurde stumpf, später wie angerauht. So war der Befund nach den ersten 60—70 Tagen, und soweit wäre der Verlauf mit einer in vivo entstehenden Karies durchaus vergleichbar. Wir ließen das Brotspeichelgemisch weitere 60 Tage einwirken: Die Oberfläche wurde rauh und spröde, von einzelnen feinsten Sprüngen durchzogen. Schließlich nach 126 Tagen fielen bereits einzelne Partikel des Schmelzes ab. Die Farbe war aber unverändert kreidig-weiß geblieben, während bei der natürlichen Karies der weiße Ton bald in einen gelben oder sogar bräunlichen Farbton übergeht. Das Dentin, das an einzelnen Stellen durch Abfallen des Schmelzes direkt freilag, hatte mit seiner gelben bis hellbraunen Färbung keine große Ähnlichkeit mit den Färbungen, die wir bei der im lebenden Organismus entstandenen Karies antreffen. Die Veränderungen, die wir durch unsere Experimente nach 60 Tagen am Zement der Versuchszähne hervorgerufen hatten ,ließen sich wohl mit einer in vivo entstandenen chronischen Karies dieses Gewebes, die sich in ihren Anfangsstadien befindet, vergleichen. Wir ließen unser Brotspeichelgemisch abermals 60 Tage einwirken und konnten in dieser ganzen Zeit am Zement lediglich eine Farbänderung von einem dunklen Gelb in ein helles Braun beobachten. Nicht einmal die Andeutung einer Zerklüftung oder eines Zerfalles der oberflächlichen Zementlagen war makroskopisch zu erkennen. Ebenso konnten am Schmelz und

Dentin keine Einschmelzungen und Zerstörungen der Substanz beobachtet werden. Reichlich 4 Monate ließen wir unsere Versuchszähne im Thermostaten in der Mischung aus Brot und Speichel liegen, ohne daß irgendeine Gewebszerstörung aufgetreten wäre. Eine bedeutsame entkalkende Wirkung der Milchsäure konnten wir zweifelsohne feststellen. Nachdem aber diese Wirkung beendet war, konnte nichts mehr das Gewebe beeinflussen und Auflösungen oder Veränderungen hieran hervorrufen, die mit proteolytischen Wirkungen bei der natürlichen Karies vergleichbar und makroskopisch sichtbar gewesen wären. Dieses Resultat bestätigt im wesentlichen die Beobachtungen von Hallberg, Fasoli, Manicardi und M. Solinas. Nur konnten wir eine dunklere und damit der natürlichen Karies ähnlichere Färbung der erzeugten Defekte feststellen. Dieses wird aber darauf beruhen, daß wir zur Herstellung des Brotspeichelgemisches ein Vollkornbrot benutzten, das mit dunklem Zuckersirup bereitet war. — Ganz im Gegensatz hierzu berichten Miller, Walkhoff, Bolbrinker und Beretta. Sie haben mit einer ähnlichen Technik experimentiert wie wir und wollen dabei eine künstliche Karies erzeugt haben, die Gewebszerstörung und Höhlenbildung erkennen ließ. Miller: „An der Mahlfläche, wo die Zahnstruktur sehr mangelhaft und voller Risse und Vertiefungen war, hatte sich das ganze Gewebe in eine weiche käseartige Masse verwandelt, wie man dies oft bei dritten Molaren vorfindet". Walkhoff: „Schon nach einigen Monaten konnte ich an den Zähnen das Auftreten von Karies an der Wurzel in Form von sog. Zahnhalskaries feststellen und innerhalb eines halben Jahres entstand auch Karies gemäß der gewünschten Höhlenform." Bolbrinker: „Die Zähne, an denen die Einwirkung am Zahnhals an der Grenze zwischen Schmelz und Zement stattfinden konnte, zeigen tiefe kariöse Höhlen. Alle Bilder gleichen vollständig denen bei der natürlichen Karies." Beretta: „Mais les résultats de mes récentes recherches de contrôle aux expériences de Miller ont démontré d'une manière sûre que dans toutes les dents employées dans les expériences on obtenait les modifications que Miller declarait identiques à celles de la carie naturelle". (Aber

die Resultate meiner jüngsten Untersuchungen über die Kontrolle der Millerschen Experimente, haben auf eine einwandfreie Art gezeigt, daß man bei den Versuchen an allen Zähnen die Modifikationen erhielt, die M i l l e r identisch mit denjenigen der natürlichen Karies erklärte.)

Bevor wir unsere Versuchszähne einer mikroskopischen Prüfung unterzogen, stellten wir von der künstlichen und der natürlichen Karies Röntgenaufnahmen her, in der Annahme, es würde sich ein Unterschied zwischen beiden in der Schattierung des Filmes ergeben. Voraussetzung für diese Untersuchungen war, daß immer unter gleichen Bedingungen geröntgt wurde. Es mußte sich also Lage und Größe der natürlichen und künstlichen Karies, die miteinander im Röntgenbild verglichen werden sollten, weitgehendst entsprechen. Hierfür eigneten sich besonders die Zähne, die z. B. disto-appr. schon in vivo kariös waren und wo wir dann mesio-appr. einen gleichgroßen Defekt hatten künstlich entstehen lassen. Wenn wir von einem Fall absehen, in dem eine etwas stärkere Schwärzung des Negativs im Bereich der natürlichen Karies zu beobachten war, so müssen wir zu dem Ergebnis kommen, daß sich röntgenologisch ein Unterschied zwischen künstlich erzeugter und natürlich entstandener Karies nicht nachweisen läßt.

Mikroskopische Betrachtung.

Für die mikroskopische Untersuchung wurden von den Versuchszähnen Dünnschliffe und Schnitte angefertigt. Das Schleifen geschah auf einer hierfür besonders geeigneten Apparatur, mit großem horizontal laufenden Carborundstein. Um ein Abspringen des Schmelzes weitgehendst zu vermeiden und einen gleichmäßig dünnen Schliff zu erzielen, wurde der Zahn, nachdem eine Schiffseite hergestellt war, in Canadabalsam oder Siegellack auf einem Glasklötzchen fixiert. Die so hergestellten Schliffe betteten wir entweder ungefärbt oder gefärbt mit alkalischer Fuchsinlösung nach entsprechender Vorbehandlung in Canadabalsam ein.

Die Zähne, die auf dem Gefriermikrotom geschnitten werden sollten, wurden entkalkt. Dann wurden Schnitte von 10—15 μ Stärke angefertigt und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Zur Bakterienfärbung dagegen wurde die Weigertsche Modifikation der Gramfärbung verwandt. Hierbei nehmen die Bakterien eine dunkelblaue Farbe an und heben sich recht gut von der rötlich gefärbten Umgebung ab.

A. Ungefärbter Schliff.

1. Künstliche Schmelzkaries.

Am Schmelz ist der Prozeß weit fortgeschritten. Nach 112—126 Tagen ist die Substanz so erweicht, daß in der Mitte des Herdes das Material beim Schleifen völlig verloren gegangen ist. Es sind daher im wesentlichen nur noch die Seitenflächen, die den Herd begrenzt haben, vorhanden. Folgende histologische bezw. optische Erscheinungen sind festzuhalten. Verschwinden der braunen Retziusfarbe in den mehr zentralen Partien. Teilweise ist die Farbe noch deutlich braun, geht dann aber in einen mehr weißlichen Farbton über. Die Retziusstreifen als solche sind bis an die Bruchlinie zu verfolgen, jedoch nur undeutlich und schmal. Die Prismen selbst kann man noch in ihrem Verlauf unterscheiden. Teilweise macht sich eine wolkige Trübung bemerkbar, die Konturen der Prismen scheinen dann stärker hervorgehoben. Unmittelbar an der Bruchlinie verschwindet die Prismenzeichnung völlig. Das Ganze sieht etwas schollig, krümelig aus und setzt sich gegenüber dem normalen Schmelz in breiter Zone ab. Die gleichen Erscheinungen kann man auch retrograd beobachten, von der Schmelz-Dentingrenze aus nach außen zu. An einer anderen Stelle sieht man, wie die Schmelzaußenfläche selbst ohne Defekterscheinung ein krümeliges, ja feinsandiges Aussehen angenommen hat. Diese Erscheinung ist aber nur ganz oberflächlich festzustellen. Allem Anschein nach hat sich hier, während sich der Zahn schon längere Zeit im Thermostaten befand, die Wachsbedeckung etwas abgehoben. So konnte Brotspeichelgemisch in den Spalt zwischen Wachs und oberster Schmelzschicht eindringen und diese Veränderung hervorrufen.

2. *Künstliche Zahnbeinkaries.*

Am gleichen Schliffpräparat sind sehr charakteristische Veränderungen festzustellen, die man etwa folgendermaßen beschreiben kann. Zum Teil ist das Zahnbein an der Schmelz-Zahnbeingrenze keilförmig verloren gegangen. Hier hat sich dann die oben erwähnte Schmelzinnenkaries gebildet. Das darunter liegende Zahnbein ist in breiter Fläche, man könnte fast sagen, lagenweise verändert. Reste von Dentinkanälchen sieht man kaum noch, hingegen die erwähnten Lagen senkrecht im Verlauf der Dentinkanälchen, aber nicht scharf gegeneinander abgegrenzt, wellig verlaufend, vielfach getrennt, wie zerstückelt aussehend. Manchmal sind die Zwischenräume zwischen den einzelnen Lagen breiter als strichförmig. Sie erscheinen hell, als ob sie leer wären. Ebenso häufig sieht man in diesen kleinen Spalten dunklere fadenförmige aber leicht körnige Elemente liegen, welche durchaus den Resten mancher Dentinkanälchen in dieser Zone gleichen, womit aber nicht gesagt sein soll, daß es die gleiche Masse bzw. der optische Ausdruck für den gleichen Zerstörungsvorgang sein soll. Unterhalb davon, d. h. weiter im Zahnbein, welches noch durchaus dem normalen Zahnbein entspricht, sieht man, und zwar in den angrenzenden Zonen, erweiterte Dentinkanälchen gleichmäßig trichterförmig mit krümeligen Massen angefüllt und mit einer viel deutlicheren Neumannschen Scheide begrenzt. Diese Dentinkanälchen endigen in der großen Mehrzahl blind, noch im mehr oder minder erhaltenen Zahnbein und nur einige ziehen in die oben erwähnte Zerstörungszone hinein. Von dieser körnigen Zerstörungszone weg ziehen auch einige wenige keilförmig verlaufende kurze Spalten etwa im spitzen Winkel zu den Dentinkanälchen in das Zahnbein, welches noch recht gut erhalten ist.

B. Gefärbter Schliff.

Künstliche Schmelz- und Dentinkaries.

Bezüglich des Schmelzes kann hier nichts besonderes gesagt werden, da er hier fast völlig verloren gegangen ist, und da es sich ja um alte Kariespräparate handelt. Auffällig ist aber

schon makroskopisch, wenigstens an einigen Präparaten, daß die kariösen Stellen das Fuchsin fast gar nicht angenommen haben im Gegensatz zu dem benachbarten Zahnbein, das nicht der Einwirkung im Brutschrank unmittelbar ausgesetzt gewesen ist. Sonst ist nichts besonderes festzustellen.

C. Schnittpräparate.

1. Schnittpräparate mit Bakterienfärbung.

Obgleich unsere Versuchszähne drei bis vier Monate im Brotspeichelgemisch im Thermostaten gelegen haben, war es doch nicht in allen Fällen möglich, Mikroben im Gewebe färberisch nachzuweisen, gleichgültig, ob es Zähne aus karieswiderstandsfähigen oder kariesanfälligen Gebissen gewesen waren. Schnitte, die wir nach 70—80 Tagen Liegezeit angefertigt haben und nach Gram färbten, ließen mit Sicherheit keine Bakterien erkennen. Erst an den Präparaten, welche mindestens 112 Tage dem Brotspeichelgemisch ausgesetzt waren, gelingt es, Mikroben in den künstlich erzeugten Defekten deutlich sichtbar zu machen. Eine recht positive Bakterienfärbung konnten wir an einem alten künstlichen Kariespräparat beobachten. Der Boden der kariösen Höhle, besser gesagt der flachen Mulde, wird hier von einem unregelmäßigen, teilweise recht dichten Bakterienrasen, bedeckt, der tief angefärbt ist. Bei der gewöhnlichen Betrachtung mit mittlerer Vergrößerung gleicht er etwa dem Bakterienrasen, den wir sonst an den freiliegenden Zahnhälsen im Zahnfleischtaschenraum sehen können. Das Zahnbein ist muldenförmig verloren gegangen, der Boden der flachen Mulde ist an manchen Stellen mehr flach, an anderen wieder leicht höckerig, im großen und ganzen aber ist die Veränderung ganz oberflächlicher Natur. Hier sieht man nun auch, wieder durchaus ungleichmäßig, wie die Infektion bzw. Invasion schon in das Zahnbein, das noch Zahnbeincharakter hat, eingedrungen ist. Die Dentinkanälchen sind leicht trichterförmig erweitert und mit Bakterienhaufen (Kokken und dicke längliche Stäbchen) angefüllt. Hier und da sind rundliche Erweiterungen im Verlaufe der Dentinkanälchen festzustellen. An einer Stelle hat man den Eindruck, als ob die

Grenzen zu den Nachbardentinkanälchen überschritten worden wären, es erinnert dies an die Kavernenbildung der natürlichen Karies, allerdings nur ganz entfernt. In etwas tieferen Schichten war die Keiminvasion aber nur noch auf einzelne Dentinkanälchen beschränkt, die dann gegenüber denen, die keine Bakterien enthielten, ungleichmäßig erweitert waren. Schichten größerer Tiefe enthielten nie Bakterien. Jedenfalls kann man sagen, daß eine Infektion vorhanden ist. Sie war aber nur in den oberflächlichen Partien festzustellen und breitete sich sowohl in den Dentinkanälchen, wie auch senkrecht zu ihnen aus. Hier führt sie dann zur Bildung von einer Art Karieskaverne, die allerdings mit den Bildern bei der natürlichen Karies nur eine sehr geringe Ähnlichkeit hat.

2. Schnittpräparate mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

Die künstlich erzeugte Veränderung hat das Aussehen einer flachen Mulde mit relativ glatt begrenzter Oberfläche. Bei mittlerer Vergrößerung sind am Boden dieser Mulde Ausbuchtungen und Eindellungen neben Zonen mit wellig und glatt verlaufender Begrenzungslinie sichtbar. Die Dentinkanälchen sind erweitert, oft wie trichterförmig, diese Stellen sind dann mit dunkler gefärbten Massen angefüllt. An einer Stelle sind die Kanäle so sehr ausgedehnt, daß die Wände nicht mehr sicher voneinander abzugrenzen sind. Es erweckt den Anschein, als wären sie ineinander übergegangen. Die Bildung sieht unregelmäßig kugelförmig aus. Alle Veränderungen betreffen jedoch nur die oberflächlichen Schichten. Nach der Tiefe zu zeigt sich das Bild normalen Dentins.

Zusammenfassend müssen wir feststellen, daß bei der im Reagenzglas entstandenen Karies einmal schon makroskopisch sichtbare Unterschiede gegenüber der Karies in vivo bestehen. Die Farbe der künstlich erzeugten Veränderungen im Schmelz auch nach 4 Monaten Liegezeit war immer kreidig-weiß. Bei der natürlichen Schmelzkaries findet man dies nur in den Anfangsstadien. Die Farbe der künstlich erzeugten Veränderungen

im Zahnbein ist hell bis dunkelgelb, eine Farbe, die man bei der natürlichen Dentinkaries auch antrifft, welche aber chronischen Prozessen entspricht. Die Farbe der künstlich erzeugten Veränderungen im Zement war dunkelgelb bis hellbraun. Auch dies entspricht einem chronischen natürlichen Prozeß der Zementsubstanz. Eine Höhlenbildung etwa im Sinne einer Unterminierung, wie man sie bei der Grübchenkaries in vivo findet, war makroskopisch nirgends festzustellen, was wir künstlich herstellten, war immer eine Flächenkaries. Die natürliche Flächenkaries verläuft ja auch typisch oberflächlich und ohne wesentliche Unterminierung. Wir konnten weiterhin beobachten, allerdings nur auf Grund von Bakterienschnittpräparaten, daß die Entkalkung der Bakterieninvasion vorausgeht. Für bemerkenswert halten wir, daß dieser Entkalkungszeit eine Invasionszeit folgt, allerdings erst vom 112. Tag der Liegezeit an. Bemerkenswert ist ferner eine trichterförmige Erweiterung der Dentinkanälchen, wie man sie ganz ähnlich bei der typisch chronischen natürlichen Karies sehen kann. Weiterhin beobachten wir im Verlaufe der veränderten Dentinkanälchen vielfach mehr rundliche multiple Erweiterungen, welche aber nicht so typisch sind wie man sie bei der ampullenförmigen Erweiterung der Dentinkanälchen bei der natürlichen Zahnbeinkaries im akuten Stadium beobachten kann. Endlich erinnert eine Art von Höhlenbildung über diese Erweiterung hinaus an die Kavernenbildung bei natürlicher Karies. Alles spielt sich aber nur in den äußersten Schichten der Dentinkanälchen ab. Mittlere und tiefere Schichten scheinen in keiner Weise verändert zu sein.

Die Beobachtungen von Miller, Walkhoff, Bolbrinker, Seitz und letzthin auch Beretta, die bei der von ihnen künstlich erzeugten Karies dieselben makro- wie mikroskopischen Erscheinungen wie bei einer in vivo entstandenen Karies festgestellt haben wollen, können wir nach unseren Untersuchungen nicht bestätigen. Wohl konnten wir Veränderungen an den Versuchszähnen künstlich erzeugen, die chronischen Affektionen am Zahnhalse recht ähnlich sind oder einer natürlichen Schmelzkaries in ihren ersten Anfangsstadien gleichen

(kreidig-weißlicher Fleck). Die mikroskopische Untersuchung der Karies in vitro zeigte aber stets nur eine gewisse oder auch nur ganz entfernte Ähnlichkeit mit den Erscheinungen, die man bei der natürlichen Karies vorfindet. Hallberg, Fasoli, Manicardi und Solinas vertreten die Ansicht, daß es sich bei den im Reagenzglas erzeugten Veränderungen lediglich um die Wirkung eines Entkalkungsprozesses handelt, der mit den pathologischen Prozessen im Organismus gar nicht zu vergleichen ist. Hallberg bestreitet sogar, daß überhaupt eine Einwanderung von Bakterien in das Gewebe statthat. Das Ergebnis unserer Untersuchungen stimmt zum großen Teil mit den Ansichten dieser Autoren überein. Im Gegensatz zu Hallberg konnten wir allerdings durch geeignet gefärbte Schnittpräparate feststellen, daß eine Einwanderung von Bakterien in das Gewebe stattfindet. Diese Mikrobeninvasion tritt jedoch erst nach reichlich drei Monaten Liegezeit der Versuchszähne im Brotspeichelgemisch ein.

Zum Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. H. H. Rebel für die Anregung zu dieser Arbeit sowie liebenswürdige Unterstützung meinen besten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Beretta: La pathogénie de la carie dentaire. Extrait de la Revue belge de stomatologie No. 4. 1932.
   — Carie in vitro e carie in vivo 1932. Zentralblatt f. d. ges. Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde 1936.
2. Beust, Theodore: Stoffwechsel im Schmelz und Dentin, illustriert durch Reaktionen bei Karies. Zentralblatt f. d. ges. Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde 1936.
3. Bircher-Benner: Ernährungsprophylaxe der Zahnkaries. Z. R. 1936. Nr. 50.
4. Bödecker, Ch., u. Applebaum: Experimentelle Zahnkaries bei Ratten. D. M. f. Z. 1933, S. 270.
5. Bunting, Russel: Über experimentelle Erzeugung von Karies bei Tieren. Dental Cosmos 1925.
6. Euler, Meyer: Pathohistologie der Zähne. München 1927.
7. Fasoli u. Manicardi: Carie in vivo e carie in vitro. (Comunicaz. al XXC S. I. di Roma) Aprile 1933.
   — Il contributo italiano allo studio della eziologia e patogenese della carie dentaria. Zentralblatt f. d. ges. Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde 1936.
8. Fish, E. W. and Maclean, I. H.: Immunity to the Organismus of dental caries. London 1934. Dental Cosmos 1934.
9. Hallberg, Per.: Über die Erzeugung und Bedeutung der künstlichen Zahnkaries. D. z. W. 1928, S. 777.
10. Hopewell-Smith: Zur Erzeugung der Karies. Dental Cosmos 1915.
11. Le Norcy: La carie, le microbe, le terrain. Zentralblatt f. d. ges. Mund-, Zahn- und Kieferheilkunde 1936.
12. Magiôt: Traité de la carie dentaire. Paris 1867.
13. Meyer, W.: Lehrbuch der normalen Histologie und der Entwicklungsgeschichte der Zähne 1932.
14. Michaelis, L.: Die Wasserstoffionen-Konzentration.
15. Miller, W. D.: Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig 1892.

16. Milles and Underwood: Trans. of the Odont. Soc. of Great Britain 1884. Correspondenzblatt f. Zahnärzte.
17. Port-Euler: Lehrbuch der Zahnheilkunde 1934.
18. Seitz, A.: Beitrag zur Ätiologie der Zahnkaries. M. med. W. 1921. S. 360.
19. Solinas, M.: Ricerche sperimentali sulla cosidetta „carie in vitro". La stomatologia. Anno XXXIII, N. 8. 1935 — XIII.
20. Türkheim: Die Wasserstoffionenkonzentration des Speichels.
21. Walkhoff: Biologische Studien über das Wesen der Zahnkaries. D. Zahnheilkunde 1919, Heft 42.
22. Wohinz, Rudolf: Über Versuche zur Kenntnis der primären Vorgänge bei der Zahnkaries. Deutsche Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde 1935.

Lebenslauf.

Am 17. Juli 1911 wurde ich, Willy Klie, als Sohn des Wilhelm Klie und dessen Ehefrau Emma geb. Heine in Göttingen geboren. Nach 3jährigem Besuch einer Mittelschule kam ich auf die Oberrealschule zu Göttingen, wo ich Ostern 1931 die Reifeprüfung bestand. Ab S.-S. 1931 studierte ich an der Universität Göttingen mit Ausnahme des W.-S. 1932/33, in dem ich beurlaubt war, Zahnheilkunde. Im S.-S. 1933 bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung, am 23. Mai 1935 die zahnärztliche Staatsprüfung und erhielt unter dem gleichen Datum die Approbation als Zahnarzt. Seither war ich in einer Privatpraxis als Assistent tätig. Ende Mai 1937 kam ich nach Göttingen zurück, um hier zu promovieren.